

# Kalibrace, kontroly kvality v koagulační laboratoři

Jiřina Zavřelová



# Kalibrační materiál

## → Komerční kalibrační plazmy

- ↘ přesně udaná hladina vyšetřované složky
- ↘ návaznost na mezinárodní referenční materiály
- ↘ některé parametry návaznost na „pool“ normální plazmu (APTT, PT,..)

## → Směsná normální plazma (PT, APTT)

# Kalibrace

## 1/ Vyšetření

- různých ředění kalibrační plazmy s udanou hladinou parametru(100%, 50 %, 25 %....)
- několika kalibračních materiálů s různou hladinou parametru
- ➔ a vynesení naměřených hodnot (čas, A...) pro jednotlivé hladiny do grafu
  - závislost lin/lin, lin/log, log/log, nelineární(polynom)

## 2/ Vyšetření referenčního času (času normálu) pro výpočet R, INR

## 3/ Načtení kalibrace čárovým kódem u předkalibrovaných metod

# Ředění kalibrační plazmy

→ Automatické

↳ naprogramováno

→ Manuální

↳ geometrickou řadou (100%, 50%, 25%, 12,5%...)

↳ přímé ředění (1:1, 1:2, 1:4, 1:8...)

# Kalibrační křivka

Grafická závislost měřeného parametru na hladině vyšetřované složky

→ měřený parametr (osa y)

↘ koagulační čas (s)

↘ absorbance (A,  $\Delta A/\text{min}$ ).....

→ hladina vyšetřované složky (osa x)

↘ aktivita (% , IU/ml...)

↘ koncentrace (g/l,  $\mu\text{g/ml}$ ...)

# Kalibrační křivka - požadavky

→ minimálně třibodová

↘ závisí na typu vyšetření

→ musí pokrýt rozsah normálních i patologických hodnot

→ linearita kalibrační křivky (ideální  $r = 1,00$ )

→ pokud **naměřená hodnota mimo kalibrovanou oblast v oblasti s klinickým významem** je nezbytné opakovat vyšetření s jiným ředěním (menším nebo větším) vyšetřované plazmy

# Odečtení výsledku

→ Automatické

→ Manuální

→ přímé odečtení

↘ stejné ředění kalibrační i vyšetřované plazmy

→ odečtení + vynásobení dilučním faktorem

↘ odlišné ředění kalibrační a vyšetřované plazmy

# Provedení kalibrace

- ➔ Při změně šarže setu/jednotlivých reagensů, v případě že nejsou součástí jednoho setu
  - rutinní i speciální testy
- ➔ S každou sérií vyšetření
  - speciální testy
    - vzhledem k omezené stabilitě reagensů a vysoké citlivosti
      - za obzvláště citlivé metody vyžadující kalibraci s každou sérií jsou považována vyšetření FF VIII, IX, XI a XII, PC a PS
- ➔ po kalibraci musí následovat provedení kontrol kvality s deklarovaným rozmezím v normálním i patologickém rozsahu



# Kontroly kvality koagulace

- Doporučení ČHS – připravuje se
  - ↘ [www.hematology.cz](http://www.hematology.cz)



Česká hematologická společnost ČLS JEP

## Doporučení pro vnitřní kontrolu kvality koagulačních vyšetření

*Zpracovali:* I. Hrachovinová, J. Zavřelová, M. Jelínková, M. Matýšková I. Malíková,  
J. Kratochvíla

*Schváleno Laboratorní sekcí ČHS ČLS JEP:*

*Schváleno Výborem ČHS ČLS JEP:*

*Aktualizace:*

*Verze:* 1

*Platnost od:* xx. 2016

# Kontroly kvality koagulace

- Vnitřní (interní) kontrola kvality (VKK, IKK)
- Externí kontrola kvality (EHK)

# Preventivní činnosti související s VKK

- Validace přístrojů
- Validace pipet
- Údržba přístrojů
- Záznamy do provozních deníků
- Kvalita diagnostik
- Verifikace metod

# Typy kontrol

- Preciznost měření v čase (mezilehlá preciznost)
- Ověření funkčnosti reagenčního systému
- Reprodukovatelnost měření stejných metod na různých analyzátorech (mezipřístrojová kontrola)
- Preciznost v sérii (opakovatelnost)
- Pravdivost (správnost)

# Preciznost

- je těsnost shody mezi navzájem nezávislými výsledky opakovaných měření téhož vzorku
  - ↘ bez vztahu k cílové hodnotě/deklarovanému rozmezí
- Měření za podmínek
  - ↘ opakovatelnosti (preciznost v sérii)
    - opakovaná analýza stejného materiálu, stejnou metodou v krátkém časovém intervalu na stejném analyzátoru... (např. 10x)
  - ↘ reprodukovatelnosti
    - opakovaná analýza stejného materiálu v různém čase v provozních podmínkách laboratoře současně se vzorky pacientů, stejný analyzátor, stejná metoda (preciznost v čase, mezilehlá preciznost)
    - opakovaná analýza téhož materiálu v provozních podmínkách laboratoře současně se vzorky pacientů stejnou metodou na různých analyzátořech (mezipřístrojová kontrola)
- Číselným vyjádřením preciznosti je
  - ↘ směrodatná odchylka (SD) od aritmet. průměru ( $\bar{x}$ ), variační koeficient (CV)
  - ↘ procentuální odchylka ( $D_{\%}$ )

# Pravdivost

- Je těsnost shody mezi průměrnou hodnotou výsledků více měření a uvedenou cílovou hodnotou referenčního kontrolního materiálu
- Mírou pravdivosti je odchylka aritmetického průměru série výsledků měření od cílové hodnoty kontrolního materiálu (bias)

# Požadavky na kontrolní vzorky

- Měření v jednom běhu současně se vzorky pacientů
- Analyzované složky musí být dostatečně stabilní
- Složení co nejvíce podobné vyšetřovaným vzorkům
- Zcela nezávislé na kalibračních materiálech
- Odlišné hladiny nelze získat různým ředěním téhož kontrolního materiálu!!!

# Kontrolní materiál

- Firemní komerční materiál (lyofilizované)
  - ↘ referenční materiál
  - ↘ materiál s deklarovaným rozmezím hodnot
    - atestovaná kontrola
  - ↘ materiál bez deklarovaného rozmezí hodnot
    - neatestovaná kontrola
- V laboratoři připravený kontrolní materiál
  - ↘ šokově zmrazený nebo čerstvý
- Kontrolní materiály v rozmezí
  - ↘ fyziologických i patologických hodnot („normální“ a patologické)



# Referenční kontrolní materiál

- Má pro daný test deklarovanou
  - ↘ cílovou hodnotu
  - ↘ nejistotu měření
  - ↘ metrologickou návaznost
  - ↘ použité postupy vyšetření
    - uvedeno v dokumentu vydaném způsobilou osobou nebo organizací (např. WHO)
- Je používán převážně pro **hodnocení pravdivosti**
- Značí se CRM, SRM..

# Atestovaný kontrolní materiál

- S uvedeným
  - ↘ deklarovaným rozmezím hodnot pro jednotlivé parametry
  - ↘ nejistotou měření
  - ↘ použitými postupy vyšetření
  - ↘ metrologickou návazností na CRM nebo bez metrologické návaznosti
- Je v souladu s IVD MD (označen „CE“ značkou)
- Lze jej použít k **ověření funkčnosti reagenčního systému**

# Neatestovaný kontrolní materiál

- Bez deklarovaného rozmezí hodnot pro jednotlivé parametry
- Mají uvedeno pouze S vymezením
  - ↘ parametry, pro které je kontrolní materiál určen
  - ↘ orientační vymezení hladiny parametrů
    - „normální a patologické“
- Je v souladu s IVD MD (označen „CE“ značkou)
- Lze jej použít ke stanovení **mezilehlé preciznosti** nebo **opakovatelnosti**

# V laboratoři připravený kontrolní materiál

→ Směsná plazma

‣ počet dárců/jedinců je vázaný na účel použití v laboratoři

→ Vzorek jednoho dárce

→ Lze jej použít ke stanovení

‣ mezilehlé preciznosti

‣ opakovatelnosti

‣ reprodukovatelnosti měření stejných metod na různých analyzátořech.

# VKK v koagulační laboratoři

- U každého typu kontroly v SOP uvedeno
  - ↘ účel měření
  - ↘ interval a četnost
  - ↘ kontrolní materiál
  - ↘ hodnocení měření
  - ↘ dokumentace měření

# Preciznost v čase (mezilehlá preciznost)

## → Účel měření

- záchyt neúměrného vychýlení denních rutinních vyšetření (PT, APTT, TT, FBG, D-Di, AT, aXa)
- speciálních koagulačních vyšetření, která se provádí s větší frekvencí (např. F VIII)

## → Interval a četnost

- každé spuštění přístroje, nová šarže reagensie, servisní zásah (s vlivem na analýzu), nová lahvička reagensie, která se musí rekonstituovat
- Minimálně 1x denně/po provedení 200 vyšetření

## → Kontrolní materiál

- komerční (neatestovaný)/připravený laboratoří
- dvě úrovně, dostatečné množství, zachování stability

# Preciznost v čase (mezilehlá preciznost)

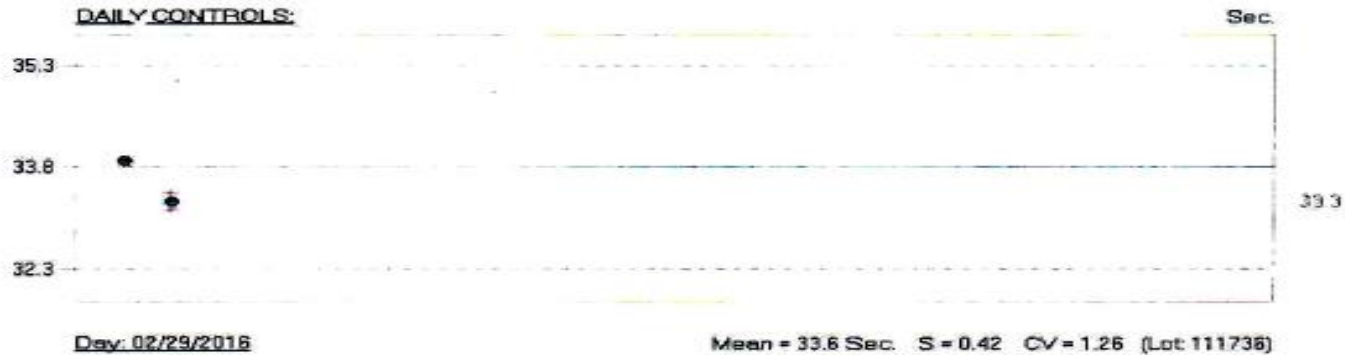
- Hodnocení měření (statistické programy)
  - ↘ průběžně průměr, SD, CV
  - ↘ kontrolní rozmezí (průměr  $\pm 2$  SD)
  - ↘ varovné rozmezí maxim. (průměr  $\pm 3$  SD)
  - ↘ Westgardova pravidla (není běžné)
  
- Dokumentace měření
  - ↘ primární dokumentace s vyhodnocením průměr, SD, CV
  - ↘ Levey-Jennings grafy
  - ↘ formuláře s autorizovanými záznamy, vyhodnocením
    - SD (výběrová SD) vypočítaná metodou „n-1“

# Kontroly preciznosti v čase - APTT

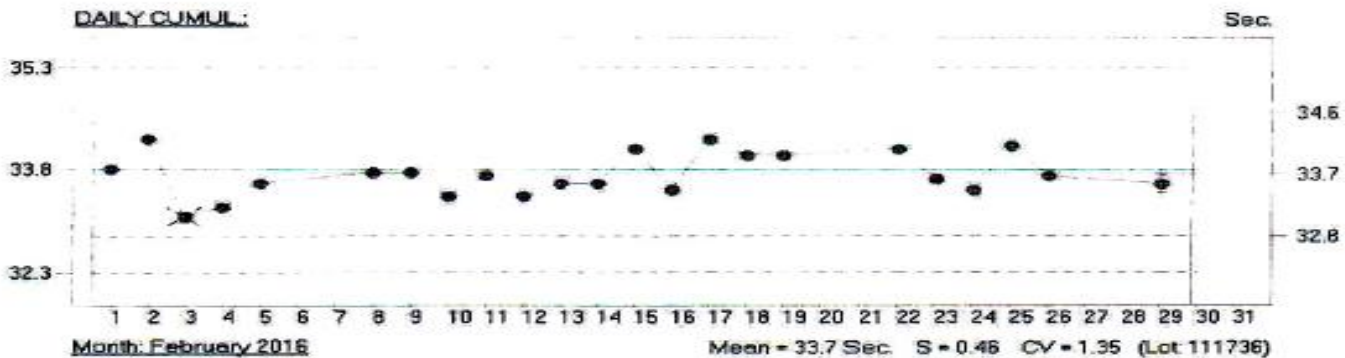
Methodology PTT-A  
APTT

Control Level 1: 70001 CONTROLN  
02/29/2016 11:39 AM 32.3 Sec  
Lot 111736 Min: 32.3 Sec. Max 35.3 Sec.

DAILY CONTROLS:



DAILY CUMUL:





# Ověření funkčnosti reagenčního systému

## → Účel měření

- ověření zda výsledky pro daný měřicí systém jsou validní

## → Interval a četnost

- Při změně šarže reagensie, při nové kalibraci metody
- Minimálně 1x měsíčně u rutinních metod a s každou sérií vyšetření u speciální metod

## → Kontrolní materiál

- komerční (atestovaný)/připravený laboratoří se stanoveným cílovým rozmezím
- dvě úrovně, pokud jsou dostupné

# Ověření funkčnosti reagenčního systému

→ Hodnocení měření

↳ výsledky v deklarovaném rozmezí

→ Dokumentace měření

↳ primární dokumentace

↳ formuláře s autorizovanými záznamy a deklarovaným rozmezím

# Mezipřístrojové kontroly

## → Účel měření

- ↘ preciznost měření za podmínek reprodukovatelnosti zpravidla u rutinních testů dní

## → Interval a četnost

- ↘ po kalibraci metody

- v rámci ověření funkčnosti reagenčního systému

- ↘ při současném provozu a v době střídání provozu na různých analyzátořech

- v rámci mezilehlé preciznosti

- minimálně 1x denně vyšetřením 2 čerstvých vzorků (dle možnosti laboratoře)

## → Kontrolní materiál

- ↘ jakýkoliv kontrolní materiál včetně čerstvých vzorků

- ↘ dvě úrovně, pokud jsou dostupné

# Mezipřístrojové kontroly

## → Hodnocení měření

- ↘ jeden analyzátor zvolit jako referenční
- ↘  $D_{\%}$  (procentuální odchylka výsledků měření analyzátorů vzhledem k referenčnímu analyzátoru)

## → Dokumentace měření

- ↘ primární dokumentace
- ↘ formuláře s autorizovanými záznamy a vyhodnocením

$D_{\%}$

- $D_{\%} = ((x - AV) / AV) \times 100$

- $x$  = výsledek měření analyzátoru

- $AV$  = vztažná hodnota referenčního analyzátoru

# Preciznost měření v sérii (opakovatelnost)

## → Účel měření

- ↘ sledování správné funkce analyzátoru kontrolou všech typů a principů měření
  - dle doporučení výrobce přístroje (APTT, FBG,AT)

## → Interval a četnost

- ↘ 6-10 měření
- ↘ 1x za 6 měsíců u poloautomatických koagulometrů
- ↘ 1x ročně u automatických koagulometrů

## → Kontrolní materiál

- ↘ jakýkoliv kontrolní materiál včetně čerstvých vzorků
- ↘ 1-2 úrovně

# Preciznost měření v sérii (opakovatelnost)

## → Hodnocení měření

- ↘ CV a/nebo  $\sigma$  (směrodatná odchylka vypočítaná metodou „n“)

## → Dokumentace měření

- ↘ primární dokumentace
- ↘ formuláře s autorizovanými záznamy a vyhodnocením CV a/nebo  $\sigma$

# Pravdivost měření (správnost)

## → Účel měření

- ↘ sledování těsnosti shody aritmetického průměru naměřených hodnot testu oproti cílové hodnotě referenčního materiálu
- ↘ pravdivost kvantifikuje systematickou chybu měření
- ↘ je součástí verifikace a validace metody

## → Interval a četnost

- ↘ alespoň 6 měření za podmínek opakovatelnosti
- ↘ minimálně 1x ročně

## → Kontrolní materiál

- ↘ referenční materiál
- ↘ 1-2 úrovně

# Pravdivost měření (správnost)

## → Hodnocení měření

- ↘ bias<sub>%</sub> (vychýlení aritmetického průměru výsledků měření oproti cílové hodnotě referenčního materiálu)

## → Dokumentace měření

- ↘ primární dokumentace
- ↘ formuláře s autorizovanými záznamy a vyhodnocením bias<sub>%</sub>
  - $\text{bias}_{\%} = ((x - C_{\text{ref}})/C_{\text{ref}}) \times 100$ 
    - x = aritmetický průměr výsledků měření
    - C<sub>ref</sub> = cílová hodnota referenčního materiálu